淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因克隆和序列分析及其与溴氰菊酯抗性的关系

王卫杰[1,2,*], 刘新颖[3], 方福瑾[2,4], 过　琴[2], 王　贺[1], 齐莉莉[1], 赵文爱[1]

(1. 河北医科大学病原生物学教研室, 石家庄 050017; 2. 南京医科大学病原生物学系, 南京 211166; 3. 保定市第二中心医院血液肾病科, 河北涿州 072750; 4. 蚌埠市第三人民医院检验科, 安徽蚌埠 233300)

摘要:【目的】克隆淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* ATP 合酶 B 亚基基因编码区序列,并进行生物信息学分析,研究其与溴氰菊酯抗性关系。【方法】通过 PCR 方法扩增 ATP 合酶 B 亚基基因编码区序列;利用生物信息学网站在线分析工具,预测 ATP 合酶 B 亚基基因编码蛋白的理化性质和功能特征;通过实时定量 PCR 方法比较 ATP 合酶 B 亚基基因在室内筛选的淡色库蚊溴氰菊酯敏感品系和抗性品系中的表达,并在现场种群溴氰菊酯敏感和抗性个体中做进一步验证。【结果】成功克隆淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因编码区序列(GenBank 登录号: KY783434),长 717 bp,编码 238 个氨基酸。生物信息学分析表明,其编码蛋白理论相对分子量为 26.96 kD,等电点为 8.97,在第 70 - 231 位氨基酸具有 ATP 合酶 B 亚基结构域,未发现信号肽和跨膜区。实时定量 PCR 结果显示,ATP 合酶 B 亚基基因在室内筛选的淡色库蚊抗溴氰菊酯品系和现场种群溴氰菊酯抗性个体中表达量均上调。【结论】本研究获得了淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因编码区序列,进行了生物信息学分析,并证实其在溴氰菊酯抗性个体中高表达,为进一步研究该基因在蚊抗药性中的作用奠定了基础。

关键词: 淡色库蚊; ATP 合酶 B 亚基; 抗药性; 溴氰菊酯; 生物信息学

中图分类号: Q966　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 0454-6296(2017)08-0900-06

Cloning and sequence analysis of ATP synthase B subunit gene and its association with deltamethrin resistance in *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae)

WANG Wei-Jie[1,2,*], LIU Xin-Ying[3], FANG Fu-Jin[2,4], GUO Qin[2], WANG He[1], QI Li-Li[1], ZHAO Wen-Ai[1] (1. Department of Pathogen Biology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Department of Pathogen Biology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; 3. Department of Hematology and Nephrology, Second Central Hospital of Baoding City, Zhuozhou, Hebei 072750, China; 4. Department of Clinical Laboratory, the Third People's Hospital of Bengbu, Bengbu, Anhui 233000, China)

Abstract:【Aim】This study aims to clone the coding sequence of ATP synthase B subunit gene, to perform bioinformatics analysis for the coding sequence and to characterize its association with deltamethrin resistance in *Culex pipiens pallens*.【Methods】The coding sequence of ATP synthase B subunit gene in *C. pipiens pallens* was amplified by PCR method. The physical-chemical properties and functional characteristics of the encoded protein were predicted by employing the web-based bioinformatics analysis. The expression of ATP synthase B subunit gene was compared between the deltamethrin-susceptible and -resistant strains selected in the laboratory by quantitative real-time PCR method, and between the deltamethrin-susceptible and -resistant individuals of the field populations for

基金项目: 河北省高等学校科学技术研究项目(QN2016005)

作者简介: 王卫杰, 男, 1980 年 6 月生, 河北邯郸人, 博士, 讲师, 研究方向为昆虫抗药性分子机制, E-mail: wwjhebmu@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wwjhebmu@163.com

收稿日期 Received: 2017-04-11; 接受日期 Accepted: 2017-05-10

further verification. 【Results】The coding sequence of ATP synthase B subunit gene (GenBank accession no.: KY783434) was cloned, which contains 717 nucleotides encoding 238 amino acids. Bioinformatics analysis showed that its encoded protein has a theoretical relative molecular weight of 26.96 kD and the isoelectric point value of 8.97 approximately. It was predicted that ATP synthase B subunit contains a structural domain (amino acids 70 – 231) of ATP-synthase _ B, but lacks signal peptide and transmembrane domain. Quantitative real-time PCR results revealed that the expression level of ATP synthase B subunit gene was up-regulated in the deltamethrin-resistant strain as compared with that in the deltamethrin-susceptible strain selected in the laboratory, and also in the deltamethrin-resistant individuals of the field populations as compared with that in the deltamethrin-susceptible individuals of the field populations. 【Conclusion】This study obtained the coding sequence of ATP synthase B subunit gene, performed bioinformatics analysis for the sequence, and confirmed its overexpression in the deltamethrin-resistant individuals, providing the basis for further studying its roles in insecticide resistance.

Key words: *Culex pipiens pallens*; ATP synthase B subunit; insecticide resistance; deltamethrin; bioinformatics

蚊可以传播疟疾、淋巴丝虫病、登革热、寨卡病毒病等多种蚊媒病，严重危害人类健康(Reiner *et al.*, 2013; Mayer *et al.*, 2017)。长期以来，化学防制在控制蚊媒、预防蚊媒病中具有重要作用(Scott *et al.*, 2015)。但大量文献报道，蚊对一种或多种杀虫剂已经产生了不同程度抗性(梁军等, 2001; Cui *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2016; Coleman *et al.*, 2017)。近年来，蚊媒病在一些国家和地区暴发流行，与蚊化学防制效果明显降低密切相关(Liu, 2015; Wilson and Chen, 2015)。因此加强抗药性治理势在必行，而深入了解抗药性机制是制定抗药性治理策略的理论依据。目前认为，抗药性机制主要包括代谢抗性和靶标抗性(David *et al.*, 2013; Liu, 2015; Scott *et al.*, 2015)。但事实上，迄今公认的代谢抗性相关基因(如细胞色素 P450 等)和靶标抗性相关基因(如乙酰胆碱酯酶等)尚不能完全阐明抗药性机制，因此分离、鉴定新的抗药性相关基因并研究其作用机制，一直是当前国内外研究热点。

本课题组前期通过蛋白质组学方法，发现 ATP 合酶 B 亚基(ATP synthase B subunit)在淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* 溴氰菊酯抗性品系中高表达(Wang *et al.*, 2015)，提示其可能与抗药性相关。ATP 合酶，又称为 F 型 ATP 合酶或 F_1F_0 型 ATP 合酶，是一个与 ATP 合成和水解有关的双向酶复合物，由嵌入膜内的 F_0 疏水尾部和突出膜外的 F_1 亲水头部组成，而 B 亚基是 F_0 的重要组成部分(Ruhle and Leister, 2015)。目前，ATP 合酶 B 亚基与蚊菊酯类杀虫剂抗性的关系尚无研究报道。

本研究旨在克隆淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因编码序列(coding sequence, CDS)，进行生物信息学分析，采用实时定量 PCR 方法验证其与蚊抗药性关系，为进一步研究该基因在抗药性中的作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试蚊虫

淡色库蚊溴氰菊酯敏感品系(deltamethrin-susceptible strain)是 2009 年采集于山东省济宁市唐口地区自然种群，由实验室长期饲养，不再接触任何杀虫剂，经幼虫浸渍法测定其对溴氰菊酯的半数致死浓度(LC_{50})为 0.03 mg/L，标记为 Lab-DS。Lab-DS 幼虫阶段经 LC_{50} 浓度不断筛选至第 32 代和第 47 代，作为本研究溴氰菊酯抗性品系(deltamethrin-resistant strain)，经幼虫浸渍法测定其对溴氰菊酯的 LC_{50} 分别是 0.85 mg/L (标记为 Lab-DR1)和 3.50 mg/L (标记为 Lab-DR2)，与 Lab-DS 相比，其抗性倍数分别是 28.33 和 116.67。

淡色库蚊现场种群分别采集于江苏省南京地区(标记为 NJ)、安徽省蚌埠地区(标记为 BB)，山东省济宁地区(标记为 JN)和商河地区(标记为 SH)。淡色库蚊幼虫带回至实验室饲养。待蚊生长 1 代后，参照 WHO 成蚊接触筒法(World Health Organization, 2013)，以含有 0.05% 溴氰菊酯药膜区分现场种群蚊抗性与敏感表型，接触药膜 80 min 内被击倒蚊被认为是敏感个体(Bonizzoni *et al.*, 2012; World Health Organization, 2013; Wang *et al.*, 2015)，标记为 DS；未被击倒蚊被认为是抗性个体，标

记为 DR。样品收集后保存于 -80℃低温冰箱、备用。

室内筛选的淡色库蚊抗溴氰菊酯品系和敏感品系以及现场种群均饲养于温度 28 ± 1℃、相对湿度 70% ~80% 的房间，光周期 14L∶10D。幼虫以酵母和兔肝粉饲养，成蚊以 10% 葡萄糖饲喂，并用小鼠饲喂产卵传代。

1.2 主要试剂

RNAiso Plus、PrimeSTAR GXL DNA Polymerase、凝胶回收试剂盒、DNA marker DL2000、PrimeScript® RT Master Mix 和 Recombinant DNase I 购自大连 TaKaRa 公司，Power SYBR® Green PCR Master Mix 购自美国 ABI 公司，0.05% 溴氰菊酯药膜购自 University Sains Malaysia，引物由上海华大基因公司合成。

1.3 淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因克隆

参照致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* ATP 合酶 B 亚基基因序列（Vectorbase ID：CPIJ006067），在其 5′端和 3′端非编码区分别设计合成上下游引物（表 1），预测扩增片段为 968 bp。用 RNAiso Plus 提取 5 头 Lab-DR2 雌蚊（羽化后 2 -3 d）总 RNA，按照说明书操作。提取后的总 RNA 用 Recombinant DNase I 去除其中 DNA。用 PrimeScript® RT Master Mix 反转录为 cDNA，具体按照说明书操作。以 cDNA 为模板，扩增淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因 CDS 序列。PCR 反应体系：5 × PrimeSTAR GXL buffer 10 μL，dNTP mixture（2.5 mmol/L each）4 μL，上下游引物（10 μmol/L）各 1 μL，cDNA 5 μL，PrimeSTAR GXL DNA Polymerase（1.25 U/μL）2 μL，灭菌去离子水 27 μL。PCR 反应条件：94℃预变性 5 min；94℃变性 30 s，58℃退火 30 s，72℃延伸 20 s，共 30 个循环；最后 72℃延伸 7 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳，割胶纯化回收后，送至上海华大基因公司测序。

表 1 本研究所用引物序列

Table 1 Primers used in the study

基因 Genes	引物 Primers	引物序列(5′-3′) Primer sequences	用途 Purpose
ATP 合酶 B 亚基基因 ATP synthase B subunit gene	ATP_ B CDS F	GCAGAACGACCATCTTTCTCC	扩增 CDS 序列 CDS amplification
	ATP_ B CDS R	TTTGTCGCACTAACAAGACAAC	
ATP 合酶 B 亚基基因 ATP synthase B subunit gene	ATP_ B qPCR F	CATGGTCATCTACGCCGTCA	实时定量 PCR Quantitative real-time PCR
	ATP_ B qPCR R	GCTGGGCAATGTTGTCCTC	
β-actin	β-actin qPCR F	AGCGTGAACTGACGGCTCTTG	
	β-actin qPCR R	ACTCGTCGTACTCCTGCTTGG	

1.4 序列分析

测序结果经 NCBI 网站 BLAST 工具比对（https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi），判定是否获得淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因 CDS 序列，然后采用 ProtParam 软件分析其编码蛋白的分子量、等电点、半衰期、稳定性指数等理化性质（http://web.expasy.org/protparam/）；SMART 软件分析蛋白质结构域（http://smart.embl-heidelberg.de/）；TMHMM 2.0 软件分析编码蛋白质跨膜区（http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/）；SignalP 4.1 软件预测蛋白质信号肽序列（http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/）（梅婷等，2017）。

1.5 ATP 合酶 B 亚基基因在室内筛选的淡色库蚊抗溴氰菊酯品系和敏感品系中的表达

根据获得的淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因 CDS 序列，设计、合成实时定量 PCR 引物，并以 *β-actin* 基因作为内参，引物序列见表 1。分别提取 Lab-DS、Lab-DR1 和 Lab-DR2 雌蚊（羽化后 2 -3 d）总 RNA，并反转录为 cDNA，方法见 1.3 节。以 cDNA 为模板，通过实时定量 PCR 方法比较 ATP 合酶 B 亚基基因在室内筛选的抗溴氰菊酯品系和敏感品系中的表达。PCR 反应体系：2 × SYBR Green Master Mix 10 μL，上下游引物（1 μmol/L）各 1 μL，cDNA 8 μL。PCR 反应条件：50℃ 2 min；95℃ 10 min；95℃ 15 s，60℃ 1 min，共 40 个循环。每个品系设有 3 个生物学重复，每个生物学重复含有 5 头雌蚊。以 *β-actin* 基因作为内参，采用 $2^{-\triangle\triangle C_T}$ 法比较 ATP 合酶 B 亚基基因在 Lab-DS，Lab-DR1 和 Lab-DR2 中的表达。

1.6 ATP 合酶 B 亚基基因在淡色库蚊现场种群中的表达

分别提取淡色库蚊现场种群 NJ-DS，NJ-DR，BB-DS，BB-DR，JN-DS，JN-DR，SH-DS 和 SH-DR 雌蚊（羽化后 2 -3 d）总 RNA，并反转录为 cDNA，方

法见 1.3 节。针对每个现场种群，通过实时定量 PCR 方法比较 ATP 合酶 B 亚基基因在溴氰菊酯敏感个体和抗性个体中的表达。

1.7　数据统计与分析

使用 SPSS19.0 软件对实验数据组间进行配对 t 检验，进行统计学分析，当 $P < 0.05$ 时，认为具有统计学意义。

2　结果

2.1　淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因 CDS 序列克隆及序列特征

经 PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳鉴定，获得与预测片段大小相一致的 PCR 产物。PCR 产物经纯化、测序、BLAST 比对验证，成功获得淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因 CDS 序列（GenBank 登录号：KY783434），长 717 bp，编码 238 个氨基酸。生物信息学分析表明，其编码蛋白理论相对分子量为 26.96 kD，等电点为 8.97；预测成熟蛋白不稳定系数为 32.82，属于稳定蛋白；脂肪指数为 83.70，总平均疏水指数为 -0.400，属于亲水性蛋白；在第 70 - 231 位氨基酸具有 ATP 合酶 B 亚基结构域；未发现有信号肽和跨膜区。

2.2　ATP 合酶 B 亚基基因在室内筛选的淡色库蚊抗溴氰菊酯品系和敏感品系中的表达

实时定量 PCR 结果显示，ATP 合酶 B 亚基基因在 Lab-DR1 和 Lab-DR2 中表达量均高于 Lab-DS 中的表达量，差异倍数分别为 3.62 和 4.64 倍（$P < 0.05$）（图 1）。

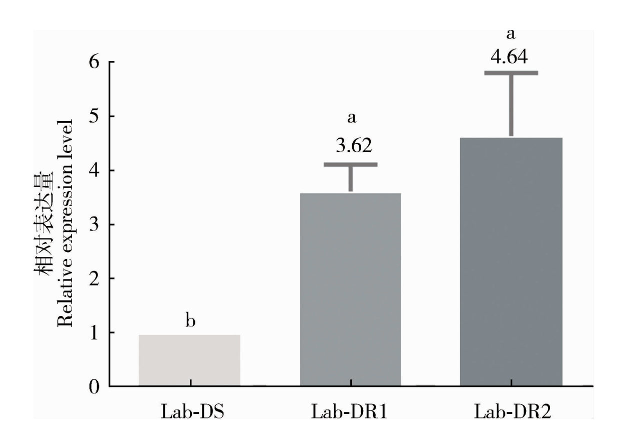


图 1　实时定量 PCR 比较 ATP 合酶 B 亚基基因在室内筛选的淡色库蚊抗溴氰菊酯品系和敏感品系中的表达量

Fig. 1　Comparison of the expression levels of ATP synthase B subunit gene in the deltamethrin-susceptible and -resistant strains of *Culex pipiens pallens* detected by quantitative real-time PCR

Lab-DS：室内筛选的溴氰菊酯敏感品系 Deltamethrin-susceptible strain selected in the laboratory; Lab-DR1, Lab-DR2：室内筛选的两个溴氰菊酯抗性品系 Two deltamethrin-resistant strains selected in the laboratory. 以 *β-actin* 基因作为内参；柱上不同字母表示表达量存在显著差异（$P < 0.05$）（t 检验）. *β-actin* gene was used as the endogenous control. Different letters above bars indicate significant difference in the expression level by Student's t-test ($P < 0.05$).

2.3　ATP 合酶 B 亚基基因在淡色库蚊现场种群中的表达

实时定量 PCR 结果显示，ATP 合酶 B 亚基基因在 NJ, BB, JN 和 SH 4 个淡色库蚊现场种群抗性个体中的表达均高于对应敏感个体中的表达，差异倍数分别为 1.85, 2.92, 2.03 和 2.33 倍（$P < 0.05$，图 2）。

3　讨论

昆虫抗药性产生是一个复杂的生物进化现象，可能涉及到多个抗药性相关基因及其调节基因之间的相互作用（Liu, 2015）。代谢抗性在昆虫抗药性中具有重要作用，而相关酶类在对杀虫剂降解过程中需要有能量的产生和传递，因此能量代谢相关基因在昆虫抗药性产生中可能具有一定作用（Konus *et al.*, 2013; Xi *et al.*, 2015）。本研究中的 ATP 合酶是生物体内能量代谢的关键酶，主要参与氧化磷酸化和光合磷酸化过程中 ATP 的合成（Walker, 2013），有可能参与了抗药性产生，而且目前也有部分文献报道了 ATP 合酶的亚基在一些昆虫抗药性品系中高表达，比如埃及伊蚊 *Aedes aegypti* ATP 合酶 b 链、γ 亚基在苏云金杆菌抗性品系中高表达（Paris *et al.*, 2012），冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* ATP 合酶 e 亚基在多种杀虫剂抗性品系中高表达（Kwiatkowska *et al.*, 2013），棉铃虫 *Helicoverpa armigera* ATP 合酶在拟除虫菊酯抗性和毒死蜱抗性品系中高表达（Konus *et al.*, 2013; Dawkar *et al.*, 2016），橄榄果蝇 *Bactrocera oleae* ATP 合酶 6 亚基在多杀霉素抗性品系中高表达（Sagri *et al.*, 2014），棉蚜虫 *Aphis gossypii* ATP 合酶 e 亚基在螺虫乙酯抗性品系中高表达（Xi *et al.*, 2015），棉蚜虫 ATP 合酶 9 亚基、γ 亚基和 f 亚基在噻虫嗪抗性品系中高表达（Pan *et al.*, 2015），但 ATP 合酶在昆虫抗药性中的作用机制尚未做进一步的研究。

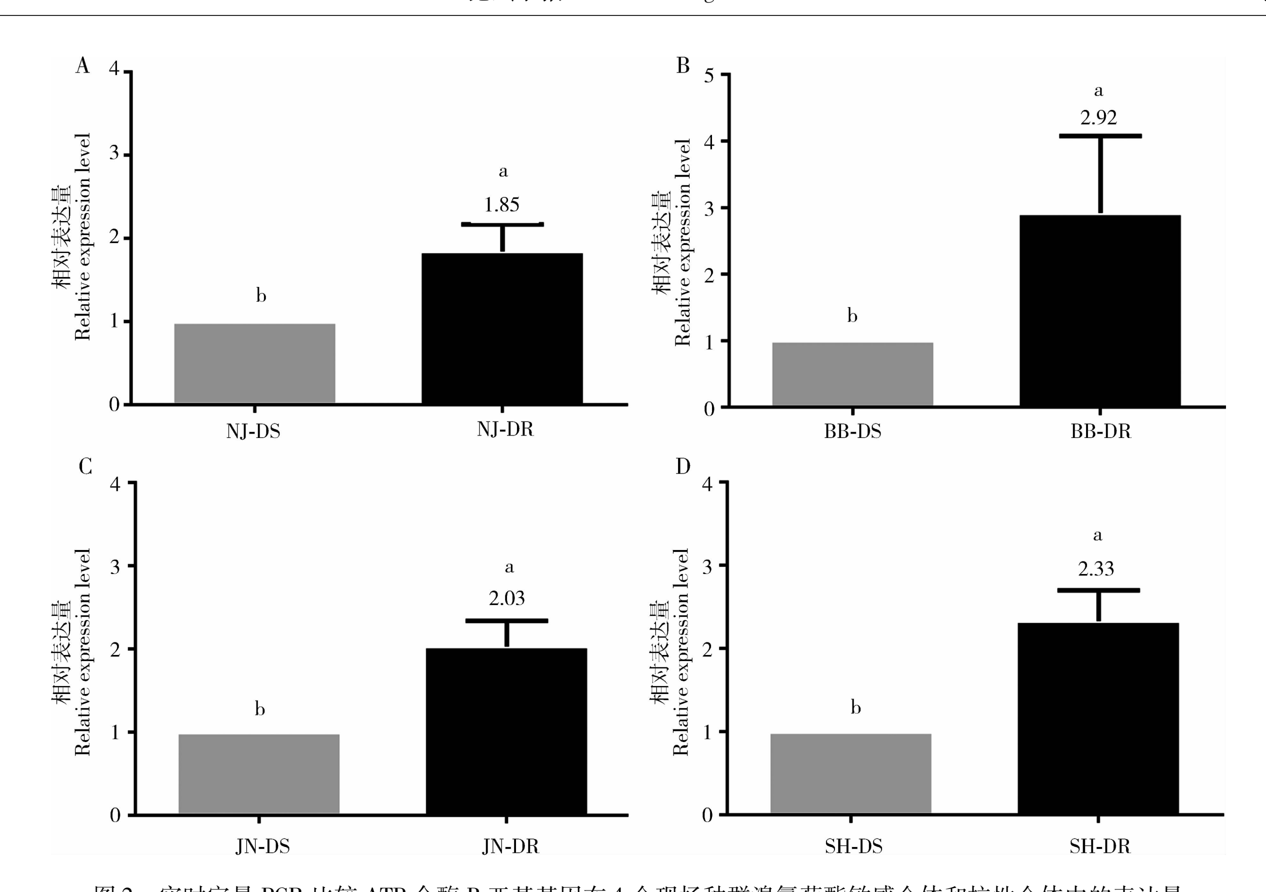


图 2 实时定量 PCR 比较 ATP 合酶 B 亚基基因在 4 个现场种群溴氰菊酯敏感个体和抗性个体中的表达量

Fig. 2 Comparison of the expression levels of ATP synthase B subunit gene in the deltamethrin-susceptible and -resistant individuals of four field populations detected by quantitative real-time PCR

A：南京地区(NJ)现场种群抗性个体(NJ-DR)和敏感个体(NJ-DS) Deltamethrin-resistant (NJ-DR) and susceptible (NJ-DS) individuals of Nanjing (NJ) field population; B：蚌埠地区(BB)现场种群抗性个体(BB-DR)和敏感个体(BB-DS) Deltamethrin-resistant (BB-DR) and susceptible (BB-DS) individuals of Bengbu (BB) field population; C：济宁地区(JN)现场种群抗性个体(JN-DR)和敏感个体(JN-DS) Deltamethrin-resistant (JN-DR) and susceptible (JN-DS) individuals of Jining (JN) field population; D：商河地区(SH)现场种群抗性个体(SH-DR)和敏感个体(SH-DS) Deltamethrin-resistant (SH-DR) and susceptible (SH-DS) individuals of Shanghe (SH) field population. 以 *β-actin* 基因作为内参；柱上不同字母表示表达量存在显著差异($P < 0.05$)(*t* 检验). *β-actin* gene was used as the endogenous control. Different letters above bars indicate significant difference in the expression level by Student's *t*-test ($P < 0.05$).

本研究发现淡色库蚊 ATP 合酶 B 亚基基因在室内筛选的抗溴氰菊酯品系和敏感品系以及现场种群抗溴氰菊酯个体中均高表达，提示该基因与淡色库蚊抗药性密切相关，在后续研究中，可通过 RNA 干涉方法，进一步观察 ATP 合酶 B 亚基基因与蚊抗药性的关系。

参考文献（References）

Bonizzoni M, Afrane Y, Dunn WA, Atieli FK, Zhou GF, Zhong DB, Li J, Githeko A, Yan GY, 2012. Comparative transcriptome analyses of deltamethrin-resistant and -susceptible *Anopheles gambiae* mosquitoes from Kenya by RNA-Seq. *PLoS ONE*, 7(9): e44607.

Coleman M, Hemingway J, Gleave KA, Wiebe A, Gething PW, Moyes CL, 2017. Developing global maps of insecticide resistance risk to improve vector control. *Malar. J.*, 16(1): 86.

Cui F, Raymond M, Qiao CL, 2006. Insecticide resistance in vector mosquitoes in China. *Pest Manag. Sci.*, 62(11): 1013–1022.

David JP, Ismail HM, Chandor-Proust A, Paine MJ, 2013. Role of cytochrome P450s in insecticide resistance: impact on the control of mosquito-borne diseases and use of insecticides on Earth. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 368(1612): 20120429.

Dawkar VV, Chikate YR, More TH, Gupta VS, Giri AP, 2016. The expression of proteins involved in digestion and detoxification are regulated in *Helicoverpa armigera* to cope up with chlorpyrifos insecticide. *Insect Sci.*, 23(1): 68–77.

Konus M, Koy C, Mikkat S, Kreutzer M, Zimmermann R, Iscan M, Glocker OM, 2013. Molecular adaptations of *Helicoverpa armigera* midgut tissue under pyrethroid insecticide stress characterized by differential proteome analysis and enzyme activity assays. *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genom. Proteom.*, 8(2): 152–162.

Kwiatkowska RM, Platt N, Poupardin R, Irving H, Dabire RK, Mitchell S, Jones CM, Diabate A, Ranson H, Wondji CS, 2013. Dissecting

the mechanisms responsible for the multiple insecticide resistance phenotype in *Anopheles gambiae* s. s., M form, from Vallee du Kou, Burkina Faso. *Gene*, 519(1): 98 – 106.

Liang J, Shen JH, Lin GF, Fu WJ, 2001. Purification and biochemical property of resistance related carboxylesterase in mosquito *Culex pipiens pallens*. *Acta Entomol. Sin.*, 44(2): 161 – 169. [梁军, 沈建华, 林国芳, 符文俊, 2001. 淡色库蚊中抗性相关羧酸酯酶的纯化及其生化性质. 昆虫学报, 44(2): 161 – 169]

Liu NN, 2015. Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions. *Annu. Rev. Entomol.*, 60: 537 – 559.

Mayer SV, Tesh RB, Vasilakis N, 2017. The emergence of arthropod-borne viral diseases: a global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. *Acta Trop.*, 166: 155 – 163.

Mei T, He ZB, Wang XT, Wang TT, Chen B, 2017. Genome-wide identification and characterization of genes of the chemosensory protein (CSP) family in *Anopheles sinensis* (Diptera: Culidae). *Acta Entomol. Sin.*, 60(2): 136 – 147. [梅婷, 何正波, 王小婷, 王婷婷, 陈斌, 2017. 中华按蚊化学感受蛋白(CSP)家族基因的全基因组鉴定和特征分析. 昆虫学报, 60(2): 136 – 147]

Pan YO, Peng TF, Gao XW, Zhang L, Yang C, Xi JH, Xin XC, Bi R, Shang QL, 2015. Transcriptomic comparison of thiamethoxam-resistance adaptation in resistant and susceptible strains of *Aphis gossypii* Glover. *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genom. Proteom.*, 13: 10 – 15.

Paris M, Melodelima C, Coissac E, Tetreau G, Reynaud S, David JP, Despres L, 2012. Transcription profiling of resistance to *Bti* toxins in the mosquito *Aedes aegypti* using next-generation sequencing. *J. Invertebr. Pathol.*, 109(2): 201 – 208.

Reiner RCJr, Perkins TA, Barker CM, Niu TC, Chaves LF, Ellis AM, George DB, Le Menach A, Pulliam JR, Bisanzio D, Buckee C, Chiyaka C, Cummings DA, Garcia AJ, Gatton ML, Gething PW, Hartley DM, Johnston G, Klein EY, Michael E, Lindsay SW, Lloyd AL, Pigott DM, Reisen WK, Ruktanonchai N, Singh BK, Tatem AJ, Kitron U, Hay SI, Scott TW, Smith DL, 2013. A systematic review of mathematical models of mosquito-borne pathogen transmission: 1970 – 2010. *J. R. Soc. Interface*, 10(81): 20120921.

Ruhle T, Leister D, 2015. Assembly of F_1F_0-ATP synthases. *Biochim. Biophys. Acta*, 1847(9): 849 – 860.

Sagri E, Reczko M, Gregoriou ME, Tsoumani KT, Zygouridis NE, Salpea KD, Zalom FG, Ragoussis J, Mathiopoulos KD, 2014. Olive fly transcriptomics analysis implicates energy metabolism genes in spinosad resistance. *BMC Genomics*, 15: 714.

Scott JG, Yoshimizu MH, Kasai S, 2015. Pyrethroid resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 120: 68 – 76.

Smith LB, Kasai S, Scott JG, 2016. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: important mosquito vectors of human diseases. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 133: 1 – 12.

Walker JE, 2013. The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown. *Biochem. Soc. Trans.*, 41(1): 1 – 16.

Wang WJ, Lv Y, Fang FJ, Hong SC, Guo Q, Hu SL, Zou FF, Shi LN, Lei ZT, Ma K, Zhou D, Zhang DH, Sun Y, Ma L, Shen B, Zhu CL, 2015. Identification of proteins associated with pyrethroid resistance by iTRAQ-based quantitative proteomic analysis in *Culex pipiens pallens*. *Parasit. Vectors*, 8: 95.

Wilson ME, Chen LH, 2015. Dengue: update on epidemiology. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 17(1): 457.

World Health Organization, 2013. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. WHO, Geneva. 6 – 16.

Xi JH, Pan YO, Wei ZX, Yang C, Gao XW, Peng TF, Bi R, Liu Y, Xin XC, Shang QL, 2015. Proteomics-based identification and analysis proteins associated with spirotetramat tolerance in *Aphis gossypii* Glover. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 119: 74 – 80.

(责任编辑：马丽萍)